

## 審査結果の要旨

報告番号	乙 第 2965 号	氏名	森重 聡
審査担当者	主査	山 本 健	(印)
	副主査	島 村 拓司	(印)
	副主査	矢野 陽久	(印)
主論文題目： CRISPR/Cas9-mediated gene correction in hemophilia B patient-derived iPSCs (血友病 B 患者由来 iPS 細胞における CRISPR/Cas9 を用いた遺伝子修復)			

## 審査結果の要旨（意見）

本研究は、第 IX 因子遺伝子異常の患者より iPS 細胞を樹立し、ゲノム編集を用いて当該遺伝子を修復した後に肝細胞へと分化させ、最終的に第 IX 因子を患者に恒常的に補充しようとする、意欲的挑戦的な試みである。研究計画はよく練られており、着実に実験が積み重ねられ、正常な第 IX 因子を転写レベルで発現する肝細胞が誘導できたことは、先端再生医療を推進する基盤成果と評価される。さらに集談会での研究発表、質疑応答は、本論文の筆頭著者としての責任を果たすに足るものであり、もって本論文は学位にふさわしいと結論した。

## 論文要旨

血友病 B は、第 IX 因子遺伝子変異に起因する凝固第 IX 因子の欠損もしくは機能障害によって発症する先天性出血性疾患である。現在の主な治療方法は凝固因子補充療法であるが、単一遺伝子疾患であることから遺伝子治療のよい適応と考えられ、これまでにアデノ随伴ウイルスベクターを応用した遺伝子治療の臨床試験がいくつか報告されてきた。しかし、依然としてウイルスベクターに対する免疫反応や恒常的な遺伝子発現などの課題が解決されていない。そこで我々は、より理想的な遺伝子細胞治療を目指し、血友病 B 患者末梢血から樹立した人工多能性幹細胞（iPS 細胞）に対して、近年注目されているゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 システムを応用した遺伝子異常修復を行った。そして更に、正常凝固因子の発現を確認するため、遺伝子修復後 iPS 細胞の肝細胞への分化誘導を試みた。今回の検討では、分化誘導した肝細胞において、凝固第 IX 因子抗原の検出にまでは至らなかったが、遺伝子修復された凝固第 IX 因子 mRNA の発現を確認できた。肝細胞分化誘導方法についてはさらなる検討が必要であるが、自己 iPS 細胞へ CRISPR/Cas システムを応用した再生医療の可能性を示すことができた。